

## 一测多评法同时测定华山参中 5 个成分的含量\*

张玉茹, 张红, 孟雪, 张瑜, 王娣, 陈娟\*\*

(陕西省中医药研究院, 西安 710003)

**摘要 目的:**建立一测多评(QAMS)法同时测定华山参中东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯等成分的含量。**方法:**采用 Agilent 5 TC - C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇 - 0.1% 磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长为 210 nm 和 344 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。以山莨菪碱为内参物, 计算东莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯的相对校正因子, 测定其含量, 并与外标法(ESM)测定结果进行比较。**结果:**5 个成分在各自范围内线性关系良好( $r = 1.000$ ), 东莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯的相对校正因子分别为 0.951 8、0.562 6、0.830 4、0.433 9, 重复性较好。QAMS 法计算所得 10 个产地华山参中东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯的含量与 ESM 实测值无显著性差异。**结论:**该方法准确稳定, 重复性好, 可用于华山参的质量控制。

**关键词:**华山参; 生物碱; 一测多评法(QAMS); 含量测定; 相对校正因子(RCF)

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024)09 - 1604 - 09

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0816

## Simultaneous determination of 5 components in *Physochlaina infundibularis* Kuang by QAMS\*

ZHANG Yu - ru, ZHANG Hong, MENG Xue, ZHANG Yu, WANG Di, CHEN Juan\*\*

(Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China)

**Abstract Objective:** To establish a quantitative analysis of multi - components by single marker (QAMS) method to simultaneously determine the contents of scopolamine, anisodamine, scopolin, hyoscyamine and scopoletin in *Physochlaina infundibularis* Kuang. **Methods:** Agilent 5 TC - C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used with methanol - 0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase for gradient elution at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The detection wavelengths were 210 nm and 344 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. The relative correction factors for scopolamine, scopolin, hyoscyamine and scopoletin and anisodamine were calculated by using anisodamine as the internal reference substance. The contents were determined and compared with the results of external standard method (ESM). **Results:** The five components had good linear relationship in their respective ranges ( $r = 1.000$ ). The relative correction factors of scopolamine, anisodamine, scopolin, hyoscyamine and scopoletin were 0.951 8, 0.562 6, 0.830 4 and 0.433 9,

\* 陕西省中医药管理局中医药全省性专款专项项目(2021 - QYZL - 01); 陕西省“秦药”研发重点实验室(2021 - QYPT - 001); 陕西省重点研发计划项目(2021SF - 279, 2023 - YBSF - 471/491); 陕西省中医药管理局项目(SZY - KJCYC - 2023 - 026/052)

\*\* 通信作者 Tel: (029)85395696; E - mail: chenjuan\_2007jie@163.com

第一作者 Tel: (029)85395696; E - mail: 1354834871@qq.com

respectively, with good repeatability. The contents of scopolamine, anisodamine, scopolin, hyoscyamine and scopoletin in *P. infundibularis* from 10 habitats calculated by QAMS method were not significantly different from those determined by ESM. **Conclusion:** The method is accurate, stable and reproducible, and can be used for the quality control of *P. infundibularis*.

**Keywords:** *Physochlaina infundibularis* Kuang; alkaloid; multi-components by single marker (QAMS); content determination; relative correction factors (RCF)

华山参为茄科泡囊草属植物漏斗泡囊草 *Physochlaina infundibularis* Kuang 的干燥根,始载于清代赵学敏所著的《本草纲目拾遗》,又名华山人参、热参、秦参、白毛参、醉汉草等,生于山坡、沟谷或草地,主要分布于陕西、河南、山西,已被列为国家二级保护植物<sup>[1-2]</sup>。具有温肺祛痰、止咳平喘、安神镇惊的功效,用于寒痰喘咳、惊悸失眠<sup>[3-4]</sup>。2020年版《中华人民共和国药典》分别采用紫外-可见分光光度法和 HPLC 法测定华山参中莨菪碱和东莨菪内酯的含量,但紫外-可见分光光度法操作复杂,准确性和重现性较差<sup>[4-5]</sup>。同时,在多种茄科植物如颠茄草、宁夏枸杞及其他科属如光叶丁公藤等植物中均含有东莨菪内酯<sup>[6-8]</sup>,其专属性不足。因此,还需要借助其他分析技术和方法对华山参进行全面的质

量控制。  
一测多评(multi-components by single marker, QAMS)是近年来应用较广泛的一种中药质量控制方法,它是通过建立内参物与待测成分之间的相对校正因子(relative correction factors, RCF),在仅测定1个成分(内参物)的基础上实现对多种成分的同时检测的方法<sup>[9-10]</sup>,可弥补中药多指标评价模式中存在的对照品数量众多,价格昂贵等不足<sup>[11-13]</sup>。目前,尚未见关于华山参一测多评法的研究报道,且在华山参质量控制方面还存在定量指标成分较少等问题。因此,本文以山莨菪碱为内参物,建立一测多评法同时测定东莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯和山莨菪碱5个成分的含量,并与外标法测定的结果进行比较,证明 QAMS 法的可行性,减少了对照品的使用数量,降低了检测成本,为华山参的全面质量控制提供了新思路。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(安捷伦公司);SHIMADZU 2010A-HT 型高效液相色谱仪

(岛津公司);KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DFT-200A 型手提式高速粉碎机(温岭市林大机械有限公司);BT25S 型电子分析天平( $d=0.01$  mg),BS210S 型电子分析天平( $d=0.1$  mg)(北京赛多利斯天平有限公司)。

### 1.2 试剂

10批不同产地华山参样品来源信息见表1,经陕西省中医药研究院张红研究员鉴定均为茄科泡囊草属植物漏斗泡囊草 *Physochlaina infundibularis* Kuang 的干燥根。对照品氢溴酸东莨菪碱(批号 CHB210125)、氢溴酸山莨菪碱(批号 CHB210118)、东莨菪内酯(批号 CHB201202)均购自成都克洛玛生物科技有限公司,纯度均 $\geq 98\%$ 。东莨菪苷(批号 PS010518,纯度 $\geq 98\%$ )购自成都普思生物科技股份有限公司、莨菪碱(批号 C12946842,纯度 $\geq 98\%$ )购自上海麦克林生化科技有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯(Thermo Fisher Scientific 公司),水为超纯水,磷酸为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液** 分别精密称取对照品氢溴酸东莨菪碱、氢溴酸山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯适量,用10%甲醇水溶解并定容,制成质量浓度分别为0.41、0.43、0.33、0.34、0.24  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液;精密吸取上述对照品储备液适量置于同一10 mL量瓶中,加10%甲醇稀释并定容,摇匀,得质量浓度分别为41、43、33、34、24  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 取华山参药材粉末(过三号筛)约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入40%甲醇水25 mL,密塞,称量,放置1 h,超声(功率300 W,频率40 kHz)处理1 h,放冷,再称量,用40%甲醇水补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液过0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

表 1 华山参样品信息

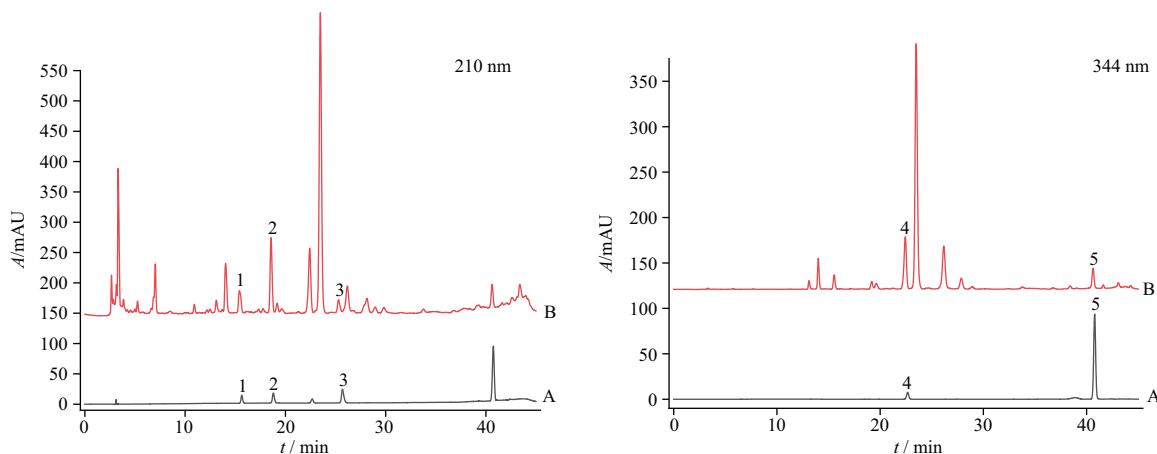
Tab. 1 Sample information of *P. infundibularis*

编号 (No.)	产地 (habitat)	批号 (lot No.)
S1	河南省洛阳市宜阳县上观乡露宝寨山(Lubaozhai Mountain, Shangguan Township, Yiyang County, Luoyang City, Henan Province)	20220406
S2	河南省洛阳市新安县青要山(Qingyao Mountain, Xin'an County, Luoyang City, Henan Province)	20220317
S3	河南省三门峡市渑池县仁村乡五凤山(Wufeng Mountain, Rencun Township, Mianchi County, Sanmenxia City, Henan Province)	20220511
S4	河南省洛阳市嵩县木札岭(Muzhaling, Song County, Luoyang city, Henan Province)	20220423
S5	河南省三门峡市渑池县仰韶大峡谷(Yangshao Grand Canyon, Mianchi County, Sanmenxia City, Henan province)	20220325
S6	陕西省渭南市华阴市(Huayin, Weinan City, Shaanxi Province)	20220428
S7	河南省洛阳市新安县黛眉山(Daimei Mountain, Xin'an County, Luoyang City, Henan Province)	20220213
S8	陕西省渭南市华阴市(Huayin, Weinan City, Shaanxi Province)	20220408
S9	河南省洛阳市嵩县车村镇(Checun Town, Song County, Luoyang City, Henan Province)	20220427
S10	河南省舞钢市尹集镇(Yinji Town, Wugang City, Henan Province)	20220316

## 2.2 色谱条件

采用 Agilent 5 TC - C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇为流动相 A, 0.1% 磷酸溶液为流动相 B, 洗脱梯度 (0 ~ 5 min, 10% A ~ 13% A; 5 ~ 10 min, 13% A ~ 18% A; 10 ~ 33 min, 18% A ~ 26% A; 33 ~ 40 min,

26% A ~ 40% A; 40 ~ 45 min, 40% A ~ 10% A), 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 东莨菪碱、山莨菪碱、莨菪碱检测波长为 210 nm, 东莨菪苷、东莨菪内酯检测波长为 344 nm。在本色谱条件下, 华山参中 5 个成分峰与相邻峰的分度度均 > 1.5, 色谱图见图 1。



1. 东莨菪碱(scopolamine) 2. 山莨菪碱(anisodamine) 3. 莨菪碱(hyoscyamine) 4. 东莨菪苷(scopolin) 5. 东莨菪内酯(scopoletin)

图 1 混合对照品(A)及华山参样品(B)的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference standards (A) and *P. infundibularis* sample (B)

## 2.3 QAMS 方法学考察

**2.3.1 线性范围** 精密吸取混合对照品溶液适量, 用 10% 甲醇依次倍比稀释, 制成一系列不同浓度的对照品溶液, 将对照品溶液按“2.2”项下色谱条件进行测定。以峰面积  $Y$  为纵坐标, 质量浓度 ( $X$ , μg · mL<sup>-1</sup>) 为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程和线性范围 (见表 2), 各成分在各自范围内线性关

系良好。

**2.3.2 精密度** 精密吸取“2.1.1”项下的混合对照品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录各个成分的峰面积, 并计算 RSD。结果表明, 东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯峰面积的 RSD 分别为 0.090%、0.22%、0.070%、0.19%、0.11%, 表明仪器精密度良好。

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various components

成分(component)	回归方程(regression equation)	线性范围(linear range)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	<i>r</i>
东莨菪碱(scopolamine)	$Y = 8.931X - 2.830$	12.81 ~ 410.00	1.000
山莨菪碱(anisodamine)	$Y = 8.512X - 3.251$	13.44 ~ 430.00	1.000
东莨菪苷(scopolin)	$Y = 14.98X + 3.974$	10.31 ~ 330.00	1.000
莨菪碱(hyoscyamine)	$Y = 10.32X - 5.923$	10.63 ~ 340.00	1.000
东莨菪内酯(scopoletin)	$Y = 19.25X + 8.575$	7.50 ~ 240.00	1.000

**2.3.3 重复性** 精密称取 6 份 S7 号样品的粉末,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,测得东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯的平均含量( $n = 6$ )分别为 1.06、3.11、0.99、2.67、0.19  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 分别为 2.5%、3.3%、1.2%、2.5%、2.2%,表明该方法重复性良好。

**2.3.4 稳定性** 精密吸取同一份供试品溶液(样品编号 S7),按照“2.2”项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,记录各个成分的峰面积,并计算 RSD。结果显示,东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、

莨菪碱、东莨菪内酯峰面积的 RSD 分别为 2.6%、1.3%、2.0%、2.0%、0.98%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.5 加样回收率** 精密称取各成分含量已知的同一批样品(样品编号 S7)0.5 g,共 6 份,以 1:1 的比例加入适量对照品溶液,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,并按照“2.2”项下色谱条件进样测定,计算各成分的加样回收率及 RSD。结果显示,各个成分的平均回收率在 90.2%~105.8%,RSD 均小于 3.0%,表明该方法准确性良好。结果见表 3。

表 3 加样回收试验结果( $n = 6$ )

Tab. 3 Results of recovery test

成分 (component)	称量 (mass)/g	样品量 (amount)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
东莨菪碱(scopolamine)	0.507 5	0.680 1	0.670 2	1.378 4	104.2	103.8	0.99
	0.502 8	0.673 8	0.670 2	1.363 9	103.0		
	0.501 2	0.671 6	0.670 2	1.377 8	105.4		
	0.502 3	0.673 1	0.670 2	1.360 3	102.5		
	0.502 7	0.673 6	0.670 2	1.372 7	104.3		
	0.502 5	0.673 4	0.670 2	1.366 0	103.3		
山莨菪碱(anisodamine)	0.507 5	1.994 5	1.995 6	4.026 6	101.8	99.4	2.5
	0.502 8	1.976 0	1.995 6	3.988 2	100.8		
	0.501 2	1.969 7	1.995 6	3.910 8	97.3		
	0.502 3	1.974 0	1.995 6	3.918 6	97.4		
	0.502 7	1.975 6	1.995 6	3.905 3	96.7		
	0.502 5	1.974 8	1.995 6	4.012 2	102.1		
东莨菪苷(scopolin)	0.507 5	0.502 4	0.498 2	0.988 5	97.6	100.3	1.6
	0.502 8	0.497 8	0.498 2	0.992 3	99.2		
	0.501 2	0.496 2	0.498 2	0.998 9	100.9		
	0.502 3	0.497 3	0.498 2	1.002 0	101.3		
	0.502 7	0.497 7	0.498 2	1.003 5	101.5		
	0.502 5	0.497 5	0.498 2	1.002 7	101.4		
莨菪碱(hyoscyamine)	0.507 5	1.355 0	1.367 9	2.858 3	109.9	105.8	2.2
	0.502 8	1.342 5	1.367 9	2.797 1	106.3		
	0.501 2	1.338 2	1.367 9	2.793 1	106.4		

表 3(续)

成分 (component)	称量 (mass)/g	样品量 (amount)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
东莨菪内酯(scopoletin)	0.507 5	0.680 1	0.670 2	1.378 4	104.2	103.8	0.99
	0.502 3	1.341 1	1.367 9	2.783 1	105.4		
	0.502 7	1.342 2	1.367 9	2.761 8	103.8		
	0.502 5	1.341 7	1.367 9	2.754 3	103.3		
	0.507 5	0.096 4	0.080 1	0.168 8	90.3	90.2	1.1
	0.502 8	0.095 5	0.080 1	0.168 0	90.5		
	0.501 2	0.095 2	0.080 1	0.167 9	90.7		
	0.502 3	0.095 4	0.080 1	0.166 3	88.5		
	0.502 7	0.095 5	0.080 1	0.167 6	90.0		
	0.502 5	0.095 5	0.080 1	0.168 7	91.4		

## 2.4 RCF

本试验采用多点校正法计算 RCF。精密吸取“2.3.1”项下不同浓度的混合对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进样,记录各个成分的峰面积,以山莨菪碱为内参物,按照公式<sup>[14-15]</sup> $f_{s/i} = f_s/f_i = (A_s/C_s)/(A_i/C_i) = (A_s C_i)/(A_i C_s)$ (式中 $f_{s/i}$ 、 $f_s$ 、 $f_i$ 分别为内参物与待

测成分的 RCF、内参物及待测成分的绝对校正因子, $A_s$ 表示内参物峰面积, $C_s$ 表示内参物的浓度, $A_i$ 表示待测成分峰面积, $C_i$ 表示待测成分的浓度),分别计算各个成分的相对校正因子( $f_{s/i}$ )及其 RSD,结果以“均值 ± 标准偏差”表示,见表 4。待测成分与内参物 RCF 的 RSD 均小于 2.0%,表明均值可作为定量用 RCF。

表 4 以山莨菪碱为内参物的 RCF

Tab. 4 RCFs with anisodamine as internal reference

稀释倍数 (dilution multiple)	RCF			
	东莨菪碱(scopolamine)	东莨菪苷(scopolin)	莨菪碱(hyoscyamine)	东莨菪内酯(scopoletin)
0	0.953 1	0.568 5	0.825 7	0.441 8
2	0.951 9	0.560 2	0.824 2	0.437 2
4	0.954 6	0.565 1	0.831 8	0.435 1
8	0.951 2	0.562 4	0.830 9	0.432 2
16	0.950 9	0.561 5	0.834 6	0.431 3
32	0.948 9	0.558 1	0.835 2	0.425 6
平均值(mean)	0.951 8	0.562 6	0.830 4	0.433 9
RSD/%	0.21	0.66	0.55	1.3

## 2.5 RCF 重现性考察

**2.5.1 不同仪器、色谱柱对 RCF 的影响** 精密量取“2.1.1”项下的混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件进样测定,考察 Agilent 1260 型、岛津 SHIMADZU 2010A-HT 型高效液相色谱仪及 Agilent 5 TC-C<sub>18</sub>、YMC-Pack ODS-A 色谱柱对 RCF 的影响,结果见表 5。测得各成分 RCF 的 RSD 均小于 2.00%,说明不同色谱柱和不同仪器对所测成分的 RCF 无显著影响。

**2.5.2 不同柱温对 RCF 的影响** 精密量取“2.1.1”项下的混合对照品溶液适量,采用 Agilent 1260 型高效液相色谱仪,Agilent 5 TC-C<sub>18</sub> 色谱柱,分别考察各待测成分在不同柱温(30、35、40℃)下的 RCF,并计算 RSD,结果见表 6。测得各成分 RCF 的 RSD 均小于 1.0%,表明柱温对各成分 RCF 无显著影响。

**2.5.3 不同流速对 RCF 的影响** 精密量取“2.1.1”项下的混合对照品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件

表 5 不同仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 5 Effects of different instruments and columns on RCFs

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	RCF			
		东莨菪碱(scopolamine)	东莨菪苷(scopolin)	莨菪碱(hyoscyamine)	东莨菪内酯(scopoletin)
Agilent 1260	Agilent 5 TC - C <sub>18</sub>	0.951 8	0.562 6	0.830 4	0.433 9
	YMC - Pack ODS - A	0.951 3	0.557 7	0.811 1	0.430 1
SHIMADZU 2010A - HT	Agilent 5 TC - C <sub>18</sub>	0.941 2	0.569 4	0.817 6	0.448 1
	YMC - Pack ODS - A	0.955 9	0.581 8	0.807 8	0.436 2
平均值(mean)		0.950 1	0.567 9	0.816 7	0.437 1
RSD/%		0.66	1.84	1.22	1.77

表 6 不同柱温对 RCF 的影响

Tab. 6 Effects of different column temperatures on RCFs

柱温 (column temperature)/°C	RCF				
	东莨菪碱(scopolamine)	东莨菪苷(scopolin)	莨菪碱(hyoscyamine)	东莨菪内酯(scopoletin)	
30	0.951 8	0.562 6	0.830 4	0.433 9	
35	0.946 8	0.556 6	0.827 9	0.428 3	
40	0.937 8	0.555 7	0.821 6	0.428 6	
平均值(mean)		0.945 5	0.558 3	0.826 7	0.430 3
RSD/%		0.75	0.68	0.55	0.73

进样测定,分别考察各待测成分在不同流速(0.8、1.0、1.2 mL · min<sup>-1</sup>)时的相对校正因子,并计算

RSD,结果见表 7。各成分 RCFs 的 RSD 均小于 3.0%,表明流速对各成分 RCF 无显著影响。

表 7 不同流速对 RCF 的影响

Tab. 7 Effects of different flow rates on RCFs

流速 (flow rate)/(mL · min <sup>-1</sup> )	RCF				
	东莨菪碱(scopolamine)	东莨菪苷(scopolin)	莨菪碱(hyoscyamine)	东莨菪内酯(scopoletin)	
0.8	0.981 0	0.584 7	0.852 5	0.458 3	
1.0	0.951 8	0.562 6	0.830 4	0.433 9	
1.2	0.944 7	0.565 9	0.825 7	0.439 1	
平均值(mean)		0.959 2	0.571 1	0.836 2	0.443 8
RSD/%		2.01	2.1	1.7	2.9

## 2.6 待测成分色谱峰定位

中药多成分含量测定的 QAMS,前提是一定要准确定位待测成分色谱峰,本文采用相对保留值( $R_{s/i} = t_{R(s)}/t_{R(i)}$ )法对待测化合物色谱峰进行定位<sup>[16-17]</sup>。通过测定参照物保留时间  $t_{R(s)}$ ,结合已知的待测成分相对保留时间  $R_{s/i}$ ,可求出待测成分的保留时间  $t_{R(i)}$ ,实现对待测成分的准确定位。以山莨菪碱为参照物,精密吸取混合对照品溶液适量,按照“2.2”项下色谱条件进样测定,考察在不同仪器和色

谱柱下测得待测成分峰的相对保留时间,结果见表 8。表明相对保留时间法在不同仪器、色谱柱下稳定性良好(RSD < 5.0%),可用于待测成分色谱峰的定位。

## 2.7 样品含量测定

分别取 10 批华山参药材,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,每份测定 3 次,分别采用 ESM 和 QAMS 法计算含量并根据 RSD 比较待测成分的含量差异。根据分子式计算,氢溴酸山莨菪碱折算成山莨菪碱系数为 0.790 6,氢溴酸东莨菪碱

表 8 不同仪器、色谱柱条件下的相对保留时间(RRT)

Tab. 8 Relative retention time by different instruments and chromatographic columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	RRT			
		东莨菪碱(scopolamine)	东莨菪苷(scopolin)	莨菪碱(hyoscyamine)	东莨菪内酯(scopoletin)
Agilent 1260	Agilent 5 TC - C <sub>18</sub>	1.204 6	0.848 0	0.730 3	0.472 8
	YMC - Pack ODS - A	1.211 4	0.904 2	0.731 0	0.471 6
SHIMADZU 2010A - HT	Agilent 5 TC - C <sub>18</sub>	1.195 5	0.832 5	0.736 1	0.461 9
	YMC - Pack ODS - A	1.199 9	0.873 4	0.742 7	0.477 5
平均值(mean)		1.202 9	0.864 5	0.735 0	0.470 9
RSD/%		0.56	3.6	0.78	1.4

折算成东莨菪碱系数为 0.789 4,待测成分质量浓度计算公式<sup>[18-19]</sup>为  $C_i = f_{s_i} A_i C_s / A_s$ ,结果见表 9。RSD 及配对 *t* 检验结果显示,2 种方法计算的含量测定结果之间的差异无统计学意义,说明本试验所建立的 QAMS 法准确、可行,可在只有山莨菪碱 1 个对照品的情况下,同时测定华山参中这 5 个成分的含量。此外,不同批次之间的待测成分含量的 RSD 为 34.5%~47.6%,存在一定的差异,可能与原药材的产地、采收等因素有关,故建立多指标成分评价模式有助于确保华山参质量的稳定。

### 3 讨论

#### 3.1 一测多评指标性成分的选择

本研究选择了活性明确,含量较高的代表成分作为华山参质量控制的指标性成分进行一测多评法的含量测定,主要包括东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱和东莨菪内酯。其中,莨菪碱、山莨菪碱等莨菪烷类生物碱具有抑制中枢和抗胆碱作用<sup>[20]</sup>,莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪碱等还可以扩张支气管,治疗咳嗽、支气管哮喘等疾病<sup>[21]</sup>,东莨菪内酯、东莨菪苷等香豆素类成分具有抗炎镇痛、利尿平喘的药理作用<sup>[3]</sup>,上述成分均为华山参的重要活性成分。因此,所选指标成分均具有与华山参中医理论、药理作用和功能主治相符的药理特性。

#### 3.2 内参物的选择

内参物不仅要有明确的治疗效果和稳定的化学性质,而且需易获得,价格低廉<sup>[22-23]</sup>。山莨菪碱是华山参的主要有效成分之一,含量较高,化学性质稳定,保留时间适中,对照品价廉易得,并且色谱峰附近的干扰峰也较少,故选择其作为内参物。

#### 3.3 提取条件的选择

本研究分别采用了 40% 甲醇水、60% 甲醇水、

80% 甲醇水溶液、甲醇和水为提取溶剂,对同一批华山参药材进行提取,结果显示,40% 甲醇水作为提取溶剂时出峰的个数及峰面积大小均最多,故最终选用 40% 甲醇水作为提取溶剂。

本研究比较了不同的超声提取时间对华山参中莨菪碱、东莨菪内酯等成分提取率的影响:超声提取 0.5 h;超声提取 1 h;放置 1 h 后超声提取 1 h。结果放置 1 h 后,超声处理 1 h 的方法能较充分地将上述 5 种成分提取出来,因此,选择该方法制备供试品溶液。

#### 3.4 流动相的选择

本研究考察了甲醇-0.05% 磷酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-0.3% 磷酸水溶液、乙腈-0.3% 磷酸水溶液流动相组成,以测定的华山参中各成分的分离效果作为指标,结果发现以甲醇-0.1% 磷酸水溶液洗脱时得到的色谱峰分离效果、塔板数和对称性等方面均较佳,且基线平稳,出峰时间亦较理想,因此,最终采用甲醇-0.1% 磷酸水溶液为色谱流动相进行梯度洗脱。

### 4 结论

本研究建立了一测多评法同时测定华山参中东莨菪碱、山莨菪碱、东莨菪苷、莨菪碱、东莨菪内酯的含量,通过相对校正因子耐用性的考察、待测目标成分色谱峰的准确定位以及 ESM 与 QAMS 法计算结果的对比,确定本文所采用的方法结果准确、可行,重复性好,可用于华山参的多成分定量分析,为华山参药材质量标准的建立和全面质量控制提供新的方法和思路。但不足之处在于并未将定量的 5 个成分与华山参的临床疗效相关联,后续可开展相关研究,以明确指标成分与疗效之间的关系,为华山参及其制剂的合理用药提供保障。

表9 华山参中5个成分含量测定结果( $n=3$ )  
 Tab.9 Determination results of 5 components in *P. infundibularis*

编号 (No.)	方法(method)	含量(content)/(mg·g <sup>-1</sup> )					P
		山莨菪碱 (anisodamine)	东莨菪碱 (scopolamine)	东莨菪苷 (scopolin)	莨菪碱 (hyoscyamine)	东莨菪内酯 (scopoletin)	
S1	ESM	2.322 2	1.928 7	0.940 5	1.851 1	0.161 3	0.980
	QAMS	—	1.923 4	0.917 9	1.853 5	0.157 4	
	RSD/%	—	0.50	1.81	0.82	1.47	
S2	ESM	1.669 3	1.874 9	0.636 9	1.140 0	0.394 1	0.982
	QAMS	—	1.869 7	0.621 6	1.141 5	0.384 5	
	RSD/%	—	0.18	1.33	0.13	2.95	
S3	ESM	1.253 2	1.376 0	0.403 4	1.230 1	0.137 4	0.976
	QAMS	—	1.372 2	0.393 7	1.231 8	0.134 0	
	RSD/%	—	0.18	1.33	1.17	1.43	
S4	ESM	1.567 2	1.055 6	0.826 3	1.780 6	0.224 2	0.982
	QAMS	—	1.052 8	0.806 4	1.782 9	0.218 7	
	RSD/%	—	0.19	1.33	0.13	1.38	
S5	ESM	1.625 1	1.307 9	1.061 5	2.060 1	0.248 4	0.982
	QAMS	—	1.304 3	1.036 0	2.062 8	0.242 3	
	RSD/%	—	0.17	1.36	0.29	1.46	
S6	ESM	0.556 2	0.504 3	0.393 9	0.893 8	0.130 0	0.983
	QAMS	—	0.502 9	0.384 5	0.895 0	0.126 8	
	RSD/%	—	0.20	1.34	0.57	1.99	
S7	ESM	3.170 1	1.058 3	0.993 8	2.707 5	0.194 9	0.991
	QAMS	—	1.055 4	0.969 9	2.711 1	0.190 1	
	RSD/%	—	2.68	2.03	1.26	3.01	
S8	ESM	1.625 7	1.827 1	0.604 6	1.093 7	0.369 1	0.983
	QAMS	—	1.822 1	0.590 0	1.095 2	0.360 0	
	RSD/%	—	0.18	1.33	0.14	3.12	
S9	ESM	3.686 1	1.434 3	1.592 2	0.851 8	0.418 5	0.953
	QAMS	—	1.430 4	1.553 9	0.852 9	0.408 2	
	RSD/%	—	0.66	1.84	2.84	1.54	
S10	ESM	3.030 9	0.947 2	1.059 9	1.128 1	0.377 0	0.999
	QAMS	—	0.944 6	1.034 4	1.129 6	0.367 7	
	RSD/%	—	1.67	2.49	2.93	1.56	

### 参考文献

- [1] 赵森森, 俞桂新, 王峥涛. 华山参化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(8): 938  
 ZHAO SM, CHOU GX, WANG ZT. Chemical constituents from roots and rhizomes of *Physochlaina infundibularis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2013, 44(8): 938
- [2] 李松武, 赵云荣, 庆伟霞, 等. 华山参的研究进展[J]. 济源职业技术学院学报, 2005 (2): 8  
 LI SW, ZHAO YR, QING WX, et al. Research development of *physochlaina infundibularis* kuang [J]. J Jiyuan Vocat Technol Coll, 2005 (2): 8
- [3] 娄玉霞, 聂桂华, 李振国. 华山参中东莨菪内酯的含量测定方法研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(6): 1137  
 LOU YX, NIE GH, LI ZG. HPLC determination of scopoletin in *Physochlainae Radix* [J]. Chin J Pharm Anal, 2011, 31(6): 1137
- [4] 陈好, 闫晓楠, 杨晓宏. HPLC法同时测定华山参中山莨菪碱、东莨菪碱、阿托品的含量[J]. 药学研究, 2015, 34(4): 209  
 CHEN Y, YAN XN, YANG XH. Determination of anisodamine, scopolamine and atropine in Huashan Shen by HPLC [J]. J Pharm Res, 2015, 34(4): 209
- [5] 中华人民共和国药典2020年版. 一部[S]. 2020: 215  
 ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 215
- [6] 张文婷, 张春阳, 黄伟, 等. 湖南产颠茄草不同生长期8个成分的动态变化及不同部位分布特征[J]. 中草药, 2016, 47(22): 4072  
 ZHANG WT, ZHANG CY, HUANG W, et al. Dynamic accumu-

- lations and distributions of eight chemical constituents of Hunan Belladonnae Herba in various parts and different growing periods [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2016, 47(22): 4072
- [ 7 ] 康志欣, 袁雪琴, 张春阳, 等. UPLC-MS/MS同时测定宁夏枸杞中香豆素类和苯丙酸类9个成分的含量[J]. *中国现代中药*, 2022, 24(10): 1861
- KANG ZX, YUAN XQ, ZHANG CY, *et al.* Simultaneous determination of the contents of 9 components including coumarin and phenylpropionic acid in *Lycium barbarum* L. by UPLC-MS/MS [J]. *Mod Chin Med*, 2022, 24(10): 1861
- [ 8 ] 胡静, 杨媛媛, 任慧, 等. 光叶丁公藤中化学成分的UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS鉴定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(18): 124
- HU J, YANG YY, REN H, *et al.* Identification of chemical constituents in caulis of *Erycibe schmidtii* by UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2020, 26(18): 124
- [ 9 ] 冯亚茹, 周荣荣, 耿佳乐, 等. 一测多评法同时测定大黄药材中8个结合型蒽醌含量的系统研究[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(11): 1884
- FENG YR, ZHOU RR, GENG JL, *et al.* Systematic study on simultaneous determination of eight anthraquinone glycosides in *Rhei Radix et Rhizoma* by QAMS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(11): 1884
- [ 10 ] 梁国焜, 袁铭铭, 熊晓丽, 等. 一测多评法同时测定大青叶中4个黄酮类成分[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(4): 582
- LIANG GP, YUAN MM, XIONG XL, *et al.* Simultaneous determination of four flavonoids in *Folium Isatidis* by QAMS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(4): 582
- [ 11 ] 王旭芳, 魏敬东, 刘伦, 等. 基于HPLC-QAMS同时测定荷叶水提物中6个成分的含量[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(2): 227
- WANG XF, WEI JD, LIU L, *et al.* Simultaneous determination of six components in aqueous extract of lotus leaf by HPLC-QAMS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(2): 227
- [ 12 ] 魏真真, 陈姿伊, 叶春颖, 等. 一测多评法同时测定白芍药材及制剂中9个成分含量[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(10): 218
- WEI ZZ, CHEN ZY, YE CY, *et al.* Simultaneous quantitative determination of 9 components in crude drugs and preparations of Baishao (*Paeoniae Radix Alba*) by QAMS method [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2023, 41(10): 218
- [ 13 ] 周洪旭, 张毅, 杨新勇, 等. 一测多评法测定川射干中8个异黄酮类成分的含量[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(6): 1072
- ZHOU HX, ZHANG Y, YANG XY, *et al.* Simultaneous determination of 8 isoflavones in *Iris tectorum* Maxim by quantitative analysis of multi-components with single marker [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(6): 1072
- [ 14 ] 任慧, 崔小敏, 胡静, 等. 一测多评法对金铃子散中来源于延胡索的5个生物碱成分含量的同时测定[J]. *西部中医药*, 2022, 35(11): 73
- REN H, CUI XM, HU J, *et al.* Simultaneous determination of five alkaloids from *Corydalis Rhizoma* in Jinlingzi powder by QAMS [J]. *West J Tradit Chin Med*, 2022, 35(11): 73
- [ 15 ] 薛显妹, 梁智科, 何翠敏, 等. 基于一测多评法测定相思子叶总黄酮部位中5种成分含量[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(2): 249
- XUE XM, LIANG ZK, HE CM, *et al.* Simultaneous determination of 5 components in total flavonoids fraction of *Abrus precatorious* leaves based on quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2023, 34(2): 249
- [ 16 ] 郭敏, 梁德颖, 黄蓉, 等. 一测多评法在四神丸中9种成分含量的测定及质量评价中的应用[J]. *中南民族大学学报(自然科学版)*, 2023, 42(2): 174
- GUO M, LIANG DY, HUANG R, *et al.* The application of one test and multiple evaluation method in the content determination and quality evaluation of 9 components in Sishen pills [J]. *J South Cent Univ Nat (Nat Sci Ed)*, 2023, 42(2): 174
- [ 17 ] 辛晓芳, 刘特津, 张公安. 一测多评法测定槐花颗粒中7种有效成分含量[J]. *广西中医药*, 2022, 45(6): 61
- XIN XF, LIU TJ, ZHANG GA. Determination of 7 active ingredients concentration in Huaihua granules by QAMS [J]. *Guangxi J Tradit Chin Med*, 2022, 45(6): 61
- [ 18 ] SU C, LI C, SUN K, *et al.* Quantitative analysis of bioactive components in walnut leaves by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS combined with QAMS [J]. *Food Chem*, 2020, 331: 127180
- [ 19 ] REN R, LI Y, CHEN H, *et al.* Carotenoid contents of *Lycium barbarum*: a novel QAMS analyses, geographical origins discriminant evaluation, and storage stability assessment [J]. *Molecules*, 2021, 26(17): 5374
- [ 20 ] 孙金洪, 卢柳衣, 潘万龙. 莨菪提取物中生物碱抗肿瘤作用机理的研究进展[J]. *大众科技*, 2023, 25(10): 61
- SUN JH, LU LY, PAN WL. Research progress on the anti-tumor mechanism of alkaloids in scopolamine extract [J]. *Popul Sci Technol*, 2023, 25(10): 61
- [ 21 ] 臧二欢, 李沁瑜, 许谨帆, 等. 茄科含莨菪烷类生物碱类群药用植物亲缘学初探[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(17): 4344
- ZANG EH, LI QY, XU JF, *et al.* A preliminary pharmacophylogenetic study of Solanaceae medicinal plants containing tropane alkaloids [J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(17): 4344
- [ 22 ] YANG T, HUANG Y, LI Q, *et al.* Determination of ten flavonoids in the raw and fermented fructus aurantii by quantitative analysis of multicomponents via a single marker (qams) based on UPLC [J]. *J Anal Methods Chem*, 2023, 2023: 6067647
- [ 23 ] ZHANG H, XIE W, LIU J, *et al.* Systematic study on a quantitative analysis of multicomponents by single marker (QAMS) method for simultaneous determination of eight constituents in pneumonia mixture by UPLC-MS/MS [J]. *J Anal Methods Chem*, 2021: 8311588

(本文于2024年6月13日修改回)